



University of Groningen

Regulation of the hepatic expression of iNOS and ABC-transporters.

Vos, Thera Anne

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1999

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Vos, T. A. (1999). Regulation of the hepatic expression of iNOS and ABC-transporters. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Ontstekingsziekten van de lever gaan vaak gepaard met een verhoogde leverschade en een verstoorde afvoer van gal uit de lever (cholestase). De levercellen sterven af en de kleine galwegen in de lever raken beschadigd. Ze kunnen op den duur zelfs helemaal verdwijnen. Bij patiënten leidt dat in veel gevallen tot vorming van littekenweefsel in de lever. Voor hen biedt een levertransplantatie de enige mogelijkheid tot genezing. Tijdens mijn promotie-onderzoek bij de afdeling Maag-, Darm- en Leverziekten van het Academisch Ziekenhuis Groningen heb ik samen met enkele collega's onderzoek gedaan naar de oorzaak van leverschade tijdens leverontstekingen. Bovendien hebben we onderzocht hoe de verlaagde galuitscheiding van de lever tijdens leverontstekingen verklaard kan worden.

Een lever met een actieve ontsteking maakt grote hoeveelheden NO (stikstofoxide). NO is een heel reactief molecuul en reageert met alles wat in de buurt komt. Dit NO wordt gemaakt door het eiwit iNOS (induceerbaar NO Synthase). In een gezonde lever is dit eiwit afwezig. Omdat NO zo reactief is denken we dat NO een belangrijke rol speelt bij leverontstekingen. De eerste vraag die we stelden was: *"In welke celtypes in de ontstoken lever is iNOS aanwezig?"*.

We hebben dit uitgezocht met behulp van een proefdiermodel; de endotoxine-behandelde rat. Door het inspuiten van endotoxine (giftig bestanddeel van bacterie celwanden) bootsten we een bacteriële infectie van de lever na. Daarna konden we de aanwezigheid van iNOS aantonen met behulp van 'antilichamen' (zie intermezzo 1). NO is moeilijk te meten omdat NO snel reageert met o.a. zuurstof, maar de stabiele eindproducten van deze reactie, nitriet en nitraat, zijn relatief eenvoudig te meten. De aanwezigheid van iNOS is zo ook *indirect* te meten. Met deze technieken hebben we kunnen vaststellen dat in de lever iNOS aanwezig is in levercellen en in ontstekingscellen (zie intermezzo 2).

De lever loopt tijdens een leverontsteking schade op. Dit zou door NO veroorzaakt kunnen worden. Maar NO kan, behalve schade berokkenen, ook gunstig werken

Intermezzo 1

Antilichamen: Antilichamen worden door het lichaam geproduceerd om lichaamsvreemde eiwitten op te ruimen. Antilichamen binden specifiek aan één type eiwit. Als je aan deze antilichamen b.v. een radioactief of fluorescerend molecuul hangt, kun je zien waar het antilichaam met het eiwit heeft gereageerd. In dit proefschrift worden antilichamen gebruikt tegen iNOS, maar ook tegen transporteiwitten die in intermezzo 3 kort besproken worden.

Intermezzo 2

Ontstekingscellen: Ontstekingscellen zijn belangrijk bij de afweer tegen infecties. Deze cellen raken bij ontstekingen geactiveerd en scheiden vervolgens stoffen uit die micro-organismen kunnen doden.

omdat NO binnengedrongen bacteriën of virussen doodt. Daarom was het volgende dat we wilden weten: "*Beschadigt of beschermt NO de lever?*".

Om deze vraag te beantwoorden hebben we stoffen gebruikt die de activiteit van iNOS remmen. Hierbij moeten we er echter rekening mee houden dat er naast iNOS (alleen in

zieke lever aanwezig) nog andere vormen van NOS bestaan die zowel in de gezonde als in de zieke lever aanwezig zijn. Deze z.g. NOS 'isovormen' zijn van groot belang voor onder andere de bloeddrukregulatie. De stoffen die gebruikt worden om de activiteit van iNOS te remmen, remmen in meer of mindere mate ook de activiteit van de andere NOS isovormen. Om vast te stellen of NO nuttig of schadelijk is bij leverontstekingen moet een specifieke iNOS-remmer worden gebruikt. Wij hebben daarom ratten met endotoxine behandeld en hebben vervolgens gekeken naar de effecten van twee NOS-remmers op de door endotoxine veroorzaakte leverschade. De ene remmer remt alle NOS isovormen terwijl de andere voornamelijk iNOS remt. De studie gaf de volgende resultaten: (1) Beide remmers resulteerden in 50% verlaging van de NO-productie, dus de activiteit van iNOS is 50% geremd. (2) De specifieke NOS-remmer verergerde de leverschade na toediening van endotoxine. (3) De remmer die voornamelijk iNOS remt had geen invloed op de, door endotoxine veroorzaakte, leverschade.

Hieruit concluderen we dat het van iNOS afkomstige NO in ons model niet beschermt tegen leverschade (we kunnen 50% van de NO-productie remmen zonder dat de schade toeneemt). Of NO schade veroorzaakt zal pas duidelijk zijn als we iNOS volledig kunnen remmen zonder dat de andere NOS isovormen ook worden geremd.

NO is niet de oorzaak van de verstoorde galuitscheiding tijdens ontstekingsziekten van de lever. Sterker nog, in de gezonde lever stimuleert een verhoogde hoeveelheid NO de galuitscheiding juist. Ondanks de verhoogde NO-productie tijdens leverontstekingen is de galuitscheiding tijdens leverontstekingen echter sterk gedaald. De vraag die we stelden was: "*Wat is de oorzaak van de verminderde galuitscheiding tijdens leverontstekingen?*".

Onder normale omstandigheden nemen levercellen stoffen op uit het bloed. Veel stoffen worden in de levercel op zodanige manier veranderd dat ze beter in water oplosbaar worden. Vervolgens worden ze in de gal uitgescheiden. De opname van stoffen uit het bloed en de uitscheiding van deze stoffen van de lever in de gal wordt verzorgd door zogenaamde 'transporteiwitten' (zie intermezzo 3). Er bestaan verschillende types transporteiwitten, elk type transporteiwit transporteert een andere groep stoffen. Omdat de galuitscheiding tijdens leverontsteking verminderd is, lijkt het logisch te veronderstellen dat de activiteit

van de transporteiwitten verminderd is. Gebruik makend van hetzelfde proefdiermodel als in het voorgaande onderzoek (de endotoxine-behandelde rat) hebben we gekeken naar de aanwezigheid van de verschillende transporteiwitten. Met behulp van antilichamen hebben we kunnen vaststellen dat de hoeveelheid transporteiwit dat verantwoordelijk is voor het transport van o.a. het gele stofje bilirubine sterk daalt na behandeling met endotoxine.

Bilirubine kan bij afwezigheid van het transporteiwit niet meer de gal in worden getransporteerd en blijft daarom in het bloed circuleren. Daarom wordt men geel (geelzucht). Ook het transporteiwit dat galzouten transporteert is verminderd, zodat er minder galzouten de gal in getransporteerd worden. Evenals bilirubine blijven dus ook de galzouten in het bloed circuleren. We concluderen uit deze studie dat de verlaagde galuitscheiding die tijdens leverziekten optreedt veroorzaakt wordt door een verminderde hoeveelheid transporteiwitten op de grens van levercel naar gal.

In de beginfase van een ontsteking of infectie wordt een verhoogde hoeveelheid van het hormoonachtige eiwit TNF (tumor necrosis factor) geproduceerd. Momenteel wordt binnen de afdeling Maag-, Darm- en Leverziekten onderzocht of TNF verantwoordelijk is voor de verminderde aanwezigheid van de genoemde transporteiwitten. Remming van de TNF-productie tijdens een leverontsteking zou in dat geval de galuitscheiding kunnen stimuleren waardoor afsterving van levercellen voorkomen wordt.

